

**Résumé des communications dédiées à Francis MAGNE,
présentées aux journées de travail de la
SOCIÉTÉ PHYCOLOGIQUE DE FRANCE (4 et 5 février 1993)**

Nathalie BOURGOUNNON¹, Marc LAHAYE², Jean-Claude CHERMANN³ et Jean-Michel KORNPBST¹ (1. Groupe Substances Marines à Activité Biologique, ISOMer, Faculté de Pharmacie, 1, rue Gaston Veil, 44035 Nantes Cedex 01. 2. Laboratoire de Biochimie et Technologie des Glucides, INRA, BP 527, 44026 Nantes Cedex 03. 3. INSERM U322, Campus Universitaire de Luminy, BP 33, 13273 Marseille Cedex 09.)

Composition et activités antivirales du polysaccharide sulfate de *Schizymenia dubyi* (Gigartinales, Gymnophloeaceae).

Les algues marines contiennent une part importante de polysaccharides et précisément des galactanes sulfatés, constituants essentiels de la paroi cellulaire. Ces galactanes comprennent les carraghénanes et les agars.

Récemment, il a été démontré que les polysaccharides sulfatés inhibaient, *in vitro*, la réplication de plusieurs virus comprenant les virus de la polio et de la grippe, les virus *Herpes simplex hominis* de type 1 et de type 2, mais également le virus d'immunodéficience acquise (1,2). Un polysaccharide sulfaté isolé à partir d'une algue rouge marine, *Schizymenia pacifica* Kylin (Gigartinales, Gymnophloeaceae) montre ainsi des effets inhibiteurs sur la réplication du VIH et sur l'activité de la transcriptase inverse (3). Des analyses physicochimiques suggèrent qu'il s'agit d'un polysaccharide sulfaté appartenant à la famille des carraghénanes de type λ (4).

L'objectif principal de notre travail est de caractériser le polysaccharide rencontré chez une autre espèce de *Schizymenia*, *S. dubyi* (Chauvin ex Duby) J. Agardh, récolté en Sicile, et de tester à son tour ses propriétés antivirales. L'analyse de la composition chimique de ce polysaccharide nous a permis de caractériser un polyholoside sulfaté tout à fait inhabituel pour une algue rouge. En effet il est composé, en rapports molaires, de: 1,00/0,04/1,16 pour galactose/3,6-anhydrogalactose/sulfate respectivement ainsi que 33,7% d'acides uroniques (5). Il n'appartient donc pas à la famille des carraghénanes et ne ressemble pas au polysaccharide rencontré chez *Schizymenia pacifica*. Les études antivirales, *in vitro*, de ce polysaccharide nous montrent des activités très intéressantes sur les virus de l'*Herpes simplex hominis* de type 1 et de type 2, de la stomatide vésiculaire et du virus de l'immuno-déficience acquise (VIH-1).

(1) Gonzales M.E. et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1987, 31: 1388.

(2) Mc Clure M.O. et al., *Aids Research and Human Retroviruses*, 1992, 8: 19.

(3) Nakashima H. et al., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 1987, 113: 413.

(4) Nakashima H. et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1987, 31: 1524.

(5) Bourgougnon N. et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 1993 (accepté pour publication).

Remerciements. Madame Françoise Ardré, MM. Mario Cormaci et G. Fumari et Loïc Girre.

Joël BRIAND et Julistiono HEDDY (Laboratoire des Membranes Biologiques, Université Paris VII, 2 Place Jussieu, 75005 Paris).

Mise en évidence chez l'euglène, de processus de détoxification similaires à ceux observés chez les mammifères.

L'euglène est une algue unicellulaire à la limite du monde végétal et du monde animal. Lorsqu'elle est cultivée à la lumière, elle développe un chloroplaste et utilise la photosynthèse pour fixer le carbone. Lorsqu'elle est cultivée à l'obscurité, son chloroplaste régresse sous forme de proplaste. Il faut alors ajouter du carbone organique au milieu de culture pour assurer sa croissance.

Nous avons montré que lorsque l'euglène est cultivée à l'obscurité avec du lactate comme substrat carboné, elle le métabolisait en réserves glucidiques suivant une voie similaire à celle utilisée par la cellule hépatique pour transformer le lactate sanguin en glycogène. Nous avons cherché à savoir si l'euglène avait d'autres similarités avec la cellule hépatique. Une autre fonction importante de la cellule hépatique est la métabolisation de l'éthanol et des xénobiotiques: nous avons essayé de mettre en évidence cette fonction chez l'euglène.

La cellule hépatique métabolise l'éthanol notamment par l'alcool déshydrogénase et le MEOS (microsomal ethanol oxidizing system). Le MEOS est composé du cytochrome P-450 et du cytochrome b_5 ainsi que de deux réductases: la NADPH cytochrome P-450 réductase et la NADH cytochrome b_5 réductase.

La spectrophotométrie nous a permis de montrer que les microsomes d'euglènes réduits par la dithionite puis bullé par du CO contiennent un cytochrome P-450. Nous avons mis en évidence aussi un cytochrome b_5 .

Lorsque les euglènes sont cultivées en présence d'éthanol, leur aptitude à oxyder ce substrat par la voie microsomale est fortement augmentée.

Comme dans la cellule hépatique, nous avons montré que l'addition de NADH ou de NADPH, cofacteurs du MEOS, accélèrent l'oxydation de l'éthanol en acétyaldéhyde, tandis que l'addition de CO ou de KCN, ligands du cytochrome P-450, diminuent fortement l'oxydation de l'éthanol par ses microsomes. L'addition, dans le milieu de culture, d'inducteurs du cytochrome P-450, PhénolBarbital (PB) ou éthanol, augmente le contenu cellulaire en P-450, mais n'affecte pas le contenu en cytochrome b_5 .

L'activité de la NADH cytochrome b_5 réductase, mesurée avec le cytochrome c comme substrat, a été observée dans deux fractions, les microsomes et le cytosol, faisant penser à un décrochage des enzymes de la membrane lors de l'extraction ou à la présence de ces enzymes dans les deux fractions. Dans les deux fractions, l'activité de cette enzyme est augmentée significativement lorsque les cellules sont cultivées en présence de PB.

L'activité de la NADPH cytochrome P-450 réductase, mesurée avec le cytochrome c comme substrat, montre le même comportement, mais avec une activité beaucoup plus faible. La présence simultanée de cette déshydrogénase dans le cytosol et la fraction microsomale, si elle n'est pas due à un artefact d'extraction, montrerait, dans ce cas, une similitude de l'euglène avec les plantes qui ont une NADPH cytochrome P-450 réductase dans le cytosol et une dans les microsomes.

Nous avons procédé à des électrophorèses de microsomes d'euglènes non traités (lactate) ou traités: lactate-phénobarbital ou cultivées en présence d'éthanol, en présence de microsomes témoins de foie de rat, ou de rats traités par l'éthanol, ou

de cytochrome P-450 induit Phénobarbital (PB) de foie de rat ou de cytochrome P-450 humain (3A). Ensuite les protéines ont été transférées sur une feuille de nitrate de cellulose et mises en présence des anticorps correspondants. Les microsomes d'euglènes cultivées sur milieu lactate contiennent un cytochrome p-450 de type 2C11 (UTA) constitutif présent dans le foie de rat mâle. Comme chez le rat, il est inhibé en présence de PB. Ces mêmes microsomes contiennent aussi un cytochrome P-450 reconnu par l'anticorps monoclonal du cytochrome constitutif du foie humain 3A (NF). Comme chez l'homme, ce cytochrome n'est pas affecté par l'alcool et le PB. L'euglène contient aussi un cytochrome reconnu par l'anticorps anti-cytochrome P-450 2E (alcool) du rat, qu'elle soit cultivée en présence d'éthanol ou de lactate. Cependant ce cytochrome est inhibé en présence de phénobarbital. Lorsque les cellules sont cultivées en présence de phénobarbital, elle forme un cytochrome P-450 de type 2B reconnu par l'anticorps monoclonal correspondant.

A partir de nombreux Western Blot, nous avons évalué, par mesure densitométrique, les quantités d'anticorps fixés. Les cellules témoins ont des quantités de cytochrome P-450 de type 2C11 (UTA) et de cytochrome P-450 de type 2E (alcool) qui augmente durant la phase exponentielle de croissance, pour baisser ensuite. Par contre la quantité de cytochrome P-450 de type 2B (phéno) est très faible et constante.

Nous avons mesuré sur les cellules l'effet des inducteurs sur les différents cytochromes. Lorsque les euglènes sont cultivés en présence de concentrations croissantes de phénobarbital, un cytochrome de type 2B apparaît pour atteindre un maximum pour 1,1 mM de phénobarbital. Corrélativement, nous observons une diminution des cytochromes P-450 de type 2E et 2C11. Ce dernier disparaissant pour la concentration de 2,2 mM. Les quantités de P-450 de type 3A ne varient pas en fonction de l'âge de la culture. Par contre ce cytochrome est partiellement inhibé par le phénobarbital ou l'alcool. L'euglène présente des activités enzymatiques typiques des monoxygénases à cytochrome P-450: une activité éthyloxydéalkylase (EROD) ainsi qu'une activité pentoxydéalkylase (PROD) qui est inductible par le phénobarbital.

J. COSSON (LBBM (Phycologie), Université de Caen, 14032 Caen Cedex).

Premiers résultats concernant la culture du *Porphyra umbilicalis* (Rhodophyceae, Bangiales).

L'ensemencement de coquilles a été réalisé soit après émission des carpospores par les thalles fertiles, soit en utilisant des boutures de *Conchocelis* obtenues en "free-living". La croissance des filaments de *Conchocelis* et la formation des conchosporanges ont été analysées en fonction des variations des conditions de température, d'éclairement et de salinité. Ainsi peut-on remarquer que la croissance des *Conchocelis* est maximale à une température de 21°C, sous une intensité d'éclairement de 16 $\mu\text{mole m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fournie 12 heures sur 24. Par contre, la formation des conchosporanges nécessite un abaissement de la température à 10°C et de l'intensité d'éclairement à 8-12 $\mu\text{mole m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Mimoun EL KAOUA (Laboratoire des Membranes Biologiques, Université Paris VII, 2 Place Jussieu, 75005 Paris).

Mise en place des deux types de centres réactionnels du photosystème II: PSII α et PSII β lors du verdissement de l'*Euglena gracilis* Z.

L'évolution de la mise en place des deux types de centres réactionnels du photosystème II, PSII α et PSII β , a été suivie au cours du verdissement d'*Euglena*

gracilis sur un milieu minimum (dépourvu de source de carbone) et sous une lumière continue. L'apparition de ces deux populations de centres ■ été corrélée au dégagement d'oxygène photosynthétique.

Les résultats obtenus indiquent que le maximum des centres PSII α chez l'euglène, qui est d'environ 55% (El Kaoua, 1992), est atteint au bout des 24h de verdissement. Cette proportion semble donc nettement plus faible que celle trouvée chez les plantes supérieures dans lesquelles les proportions de PSII α atteignent jusqu'à 80% des centres totaux (Anderson & Melis, 1983). Cet appauvrissement des euglènes en centres PSII α , qui sont supposés être situés dans les zones de partition, peut être dû à l'ultrastructure des membranes thylakoïdiennes qui, chez les euglènes, ■ présente pas de régions granaires typiques des plantes supérieures. Les membranes thylakoïdiennes sont appariées par 2 ou 3 sur toute leur longueur en formant potentiellement 1 à 2 zones d'accolement. La prolongation du temps de verdissement est suivie d'une baisse du pourcentage du PSII α qui ne représentent que 28% des centres totaux au 4ème jour (les centres PSII β représentant le complément à 100% des centres).

La comparaison des évolutions, au cours du verdissement, des deux types de centres et de l'activité photosynthétique montre que seul les centres PSII α semblent avoir un rôle dans le dégagement d'oxygène photosynthétique. La baisse de cette activité photosynthétique, en fonction durant le verdissement, semble donc une conséquence de l'enrichissement en centres PSII β . L'inefficacité des centres PSII β dans le dégagement d'oxygène photosynthétique a déjà été expliquée par l'absence des plastoquinones dans les régions stromatiques où sont localisés ces centres (Thielen & Gorkom, 1981; Melis, 1985). D'autres travaux ont montré que les vésicules formées à partir des thylakoïdes stromatiques, riches en centres PSII β ne sont pas photosynthétiques (Henrysson & Sundby 1990). Les mêmes vésicules peuvent devenir oxygéniques en présence d'une quinone exogène, acceptant les électrons, telle que le phenol-p- benzoquinone ayant un potentiel redox égal à + 279 mV. L'incapacité des centres PSII β de dégager l'oxygène est due ■ potentiel redox très électropositif de Q $_A$ (+120 mV), par rapport à celui de plastoquinones (+116 mV); donc il n'y a pas de transfert des électrons entre Q $_A$ et Q $_B$.

Anderson J.M. & Melis A., 1983 - Localization of different photosystems in separate regions of chloroplast membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 745-749.

Henrysson T. & Sundby C., 1990 - Characterization of photosystem II in stroma thylakoid membranes. *Photosynth. Research* 25: 107-117.

El Kaoua M., 1992 - Mise en place des lipides et des centres réactionnels PSII α et PSII β , au cours du verdissement d'*Euglena gracilis*. Comparaison entre la souche témoin Z et Z142 et Z145, cellules ayant subi des chocs de température. Thèse de Doctorat de l'Université Paris VII.

Melis A., 1985 - Functional properties of PSIIb in spinach chloroplast. *Biochim. Biophys. Acta* 808: 334-342.

Thielen A.P.G.M. & Van Gorkum H.J., 1981 - Quantum efficiency and antenna size of photosystem II α , II β and ■ in tobacco chloroplast. *Biochim. Biophys. Acta* 635: 111-120.

C.A. FOLEFACK et J. COSSON (LBBM (Phycologie), Université de Caen, 14032 Caen Cedex).

Mise au point d'une méthode d'évaluation de la croissance des Laminaires par un indice biochimique: dosage de l'aspartate transcarbamylase.

L'aspartate transcarbamylase pourrait être un marqueur d'utilisation aisée de la croissance des gamétophytes de Laminaires en culture. Le travail présenté montre l'existence de cette enzyme chez *Laminaria digitata* et *Saccorhiza polyschides* avec les valeurs respectives de $1,44 \times 10^{-3}$ et $3,78 \times 10^{-3}$ mU. Par contre les dosages effectués sur des sporophytes de *Laminaria digitata* récoltés en automne ont montré une activité aspartate transcarbamylase pratiquement nulle, correspondant en fait à une période de croissance très ralentie.

J. FRESNEL et C. BILLARD (LBBM (Phycologie), Université de Caen, 14032 Caen Cedex).

Une nouvelle espèce de *Rhodorus* (Rhodophycées, Porphyridiales) en provenance des Antilles.

L'organisme présenté, isolé par F. Magne, constitue la seconde espèce connue du genre *Rhodorus* Geitler 1930. Il se distingue du type, *R. marinus*, essentiellement par la couleur de ses colonies, la taille de ses cellules ainsi que les caractères de son plaste. L'étude en microscopie électronique a montré cependant une grande similitude de structure avec *R. marinus*, notamment au niveau du pyrénioïde. Rarement signalées, ces Rhodophycées palmelloïdes et primitives sont néanmoins à rechercher dans les eaux chaudes et côtières du globe. La nouvelle espèce sera désignée en l'honneur de Francis Magne, pour sa large contribution à la connaissance des algues rouges.

I. KABBAJ¹ et J. COSSON² (1. SETEXAM, BP 210, Kénitra (Maroc). 2. LBBM (Phycologie), Université de Caen Cedex).

Etudes ultrastructurales chez *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyceae, Gelidiales): premiers résultats concernant la paroi et le plaste.

L'évolution de la paroi et du plaste chez *G. sesquipedale* (Clem.) Bornet et Thuret des côtes marocaines a été suivie tout au long de l'année, en relation avec la période de synthèse de l'agar. En période de croissance printannière active, le métabolisme cellulaire est orienté vers la synthèse de protéines et de rhodamylon alors qu'en période hivernale de faible croissance, la cellule fabrique des polysaccharides pariétaux, en partie aux dépens du rhodamylon, augmentant ainsi l'épaisseur de la paroi à cette époque.

M. LAHAYE¹ et M.A.V. AXELOS² (1. Laboratoire de Biochimie et Technologie des Glucides. 2. Laboratoire de Physico-Chimie des Macromolécules, INRA, BP 527, 44026 Nantes Cedex 03).

Etudes des propriétés gélifiantes de polysaccharides d'ulves de "marée vertes".

Des polysaccharides ont été extraits par l'eau à partir d'ulves proliférantes en Bretagne nord. Ces polysaccharides, appelés ulvanes par simplicité, sont composés de 41,7% d'oses, 15,8% de sulfates, 4,3% de protéines et de 23,7% de cendres (poids sec de l'extrait). Les oses présents sont le rhamnose (18,4%, poids sec de l'extrait), le glucose (4,4%), le xylose (1,9%), le mannose (0,9%), le galactose (0,9%) et des acides uroniques (15,2%). Des gels de module d'élasticité d'environ 3 Pa mesuré avec un rhéomètre de type "cone-plan" (Carr-Med) ont été obtenus avec une solution à 1,6% dans l'eau déionisée. Ce module est augmenté à environ 160 Pa en présence de 15-33 mM d'acide borique et à environ 250 Pa en présence de 7 mM d'acide borique et de 7 mM de chlorure de calcium. L'ajustement à pH $\geq 7,5$ de la solution par des tampons phosphate ou Tris-HCl ou par du tétraborate de sodium est néfaste à la formation du gel.

Ces résultats démontrent que l'importante biomasse d'ulves et notamment les espèces responsables des "marées vertes" est une source potentielle de polysaccharides gélifiants. Le mécanisme particulier de gélification impliquant le bore et le calcium, ainsi que la structure chimique fine de ces ulvanes sont en cours d'études.

R. LEMÉE¹ et ², D. PESANDO², M. DURAND-CLÉMENT², A. DUBREUIL², R. BERARDI², A. MEINESZ¹ et F. PIETRA³ (1. Laboratoire Environnement Littoral, Université de Nice Sophia-Antipolis, Faculté des Sciences, 06108 Nice Cedex 2. 2. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Unité Mer et Santé (U 303), 06230 Villefranche-sur-Mer. BP 303. 3. Istituto di Chimica, Università di Trento, I-38050, Povo-Trento.

Premiers éléments d'étude sur la toxicité de *Caulerpa taxifolia* introduite en Méditerranée occidentale.

Caulerpa taxifolia (Vahl) C. Agardh (Ulvoiphyceées, Caulerpales) est une algue de répartition pantropicale. Elle a été observée en Méditerranée en 1984 devant le Musée Océanographique de Monaco (1). Les caractéristiques de sa croissance sont différentes des régions d'où elle est originaire et son recouvrement peut atteindre 100% sur une large amplitude bathymétrique et sur différents substrats. De plus, on remarque une baisse de la diversité de la faune et de la flore dans les sites envahis (2).

Les Caulerpes sont connus pour contenir des métabolites secondaires toxiques ou répulsifs pour lutter contre les herbivores (3). Guerriero *et al.* (4) ont isolé six sesquiterpènes et un monoterpène à partir de *C. taxifolia* introduite en Méditerranée. Quatre de ces substances et des extraits bruts méthanoliques et aqueux de l'algue ont fait l'objet d'une étude de toxicité sur deux modèles pharmacologiques. Nous avons recherché la létalité des substances sur des souris (injection intrapéritonéale) et le pouvoir antimitotique par l'étude du retard ou de l'inhibition de la division des oeufs d'oursin (*Paracentrotus lividus*). Un témoin a été réalisé avec une autre algue siphonnée (*Bryopsis maxima* Okamura).

Les extraits méthanoliques de *C. taxifolia* sont actifs sur les deux modèles et mettent en évidence une variation annuelle de la toxicité ainsi qu'une baisse de l'activité lors de la conservation de cette algue en aquarium. Les extraits aqueux ne sont toxiques que sur les mammifères et ne présentent pas de variation saisonnière. Les extraits méthanoliques du témoin ne sont actifs sur aucun des modèles. Parmi les trois produits purs qui ont un pouvoir antimitotique, le sesquiterpène "caulerpényne" est le plus actif. Un seul produit est actif sur les souris (l'époxycaulerpényne), mais il est très toxique.

La présence de métabolites secondaires toxiques dans *C. taxifolia* introduite en Méditerranée amplifie le problème écologique posé par cette algue, car elle est peu ou pas consommée par les macroherbivores (fait confirmé par des tests en aquarium et des observations *in situ*) et elle présente un risque écotoxicologique pour les microorganismes et les oeufs d'organismes pluricellulaires pouvant se trouver à proximité ou en contact avec cette algue.

(1) Meinesz A. & Hesse B., 1991 - *Oceanologica Acta*, 14, 4: 415-426.

(2) Boudouresque C.F., Meinesz A., Verlaque M. & Knoepfler-Peguy M., 1992 - *Cryptogamie Algologie* 22, 6: 144-145.

(3) Paul V.J. & Fenical W., 1986 - *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 34: 157-169.

(4) Guerriero A., Meinesz A., d'Ambrosio M. & Pietra F., 1992 - *Helvetica Chimica Acta* 75, 7p.

S. LOISEAUX-de GOER (Station Biologique, Roscoff)

Origine de quelques gènes plastidiaux de *Pylaiella littoralis*.

M. MEJJAD¹, F. VEDEL¹, S. LOISEAUX-de GOER² et G. DUCREUX¹ (1. Laboratoire de Morphogenèse Végétale Expérimentale, Bât. 360, Université Paris Sud, 91405 Orsay Cedex. 2. Station Biologique, Roscoff).

Caractérisation de différents taxons de *Pylaiella littoralis* (L.) Kjell. (Phéophycée) par des marqueurs moléculaires.

Quatre souches d'une algue brune filamenteuse: *Pylaiella littoralis* (L.) Kjell. ont été caractérisées à la fois par RAPD (amplification au hasard du polymorphisme de l'ADN) et par les profils de restriction obtenus à partir de la digestion d'un fragment amplifié de l'opéron de la RUBISCO. Afin d'éliminer les effets des contaminations bactériennes et les excès de polysaccharides provenant des parois, l'ADN a été extrait à partir de protoplastes et purifié dans un gradient au CsCl avant amplification.

Les résultats obtenus montrent que ces souches de provenances géographiques diverses sont aussi génétiquement différentes. Ces marqueurs moléculaires permettent une approche nouvelle de la systématique et de la diversification de ces espèces filamenteuses difficiles à discriminer sur le plan morphologique. De façon plus générale, ces méthodologies devraient aider à l'évaluation taxonomique des macroalgues.

Jean-Michel ROBERT et Vincent TURPIN (ISOMer-URA CNRS 1356 (Laboratoire de Biologie Marine), Faculté des Sciences et des Techniques, 2 rue de la Houssinière, 44072 Nantes Cedex 03).

La marennine synthétisée par la diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen est-elle toxique pour l'algue? Premiers résultats.

Haslea ostrearia ou "Navicule bleue" est connue pour synthétiser un pigment bleu surnuméraire, hydrosoluble, appelé la marennine, de nature chimique encore inconnue. L'extraction et la purification de ce pigment sont désormais maîtrisées. Il apparaissait alors judicieux de tester sa toxicité sur des populations de Navicules non pigmentées en bleu. En effet, en cultures monospécifiques, la marennine est libérée dans le milieu lorsque la phase de plateau est atteinte et pourrait être un facteur de limitation de la croissance par effet chimique.

Des concentrations croissantes de pigment ont été ajoutées à des cultures réalisées soit en puits cellulaires de 5 ml soit en tubes de 40 ml. Les premières expériences ont montré que l'apport de marennine est sans action pour des concentrations comprises entre 0,5 et 5 mg l⁻¹; elle devient toxique au delà de 60 mg l⁻¹, et entre 10 et 40 mg l⁻¹ elle stimule la croissance. Cette action bénéfique est assez surprenante étant donné que la Diatomée, en culture de masse, en excrète de 10 à 20 mg l⁻¹ au maximum. Il convient donc de rechercher expérimentalement les causes de cette action bénéfique.

Cette action spécifique du pigment bleu devra être recherchée également vis-à-vis d'autres diatomées dans les eaux des claires ostréicoles. En effet les seuils de toxicité propres à chaque espèce pourraient expliquer l'exclusion compétitives qui caractérise *H. ostrearia* dans les bassins où elle se multiplie abondamment.

A. SOURNIA (C.N.R.S. - Géologie, Mus. Natl. Hist. Nat. Paris).

Efflorescences, blooms, red tides, dinoflagellés, phytoplancton toxique et autres confusions.

Un certain nombre d'espèces du phytoplancton marin sont responsables de proliférations locales auxquelles diverses désignations, plus ou moins fondées, ont été données: eaux colorées, eaux décolorées, eaux rouges, fleurs d'eaux, efflorescences (pour ne citer que les termes français les plus utilisés). Toutes ces désignations veulent traduire le fait que la couleur habituelle de la mer, telle que perçue par l'œil humain s'est trouvée modifiée; le terme de "bloom", en voie de francisation, est ambigu car il n'implique pas nécessairement cette caractéristique.

Par ailleurs, un certain nombre d'espèces provoquent des mortalités dans la faune marine ou des intoxications humaines éventuellement fatales.

Ces deux catégories (ci-dessous: "1" et "2" respectivement) se recouvrent, mais imparfaitement: toutes les espèces "1" ne sont pas nuisibles ni toxiques (fort heureusement) et, parallèlement, toutes les espèces "2" ne provoquent pas d'eaux colorées (ce qui ne facilite pas leur détection). Un inventaire mondial des deux contingents, confrontés à l'inventaire de l'ensemble de la flore phytoplanctonique marine, conduit à modifier plusieurs idées reçues:

- les effectifs des deux catégories ne sont nullement négligeables: ils atteignent 6% (pour "1") et presque 2% (pour "2") de la flore mondiale.

- Les dinoflagellés ne sont pas les seuls responsables. Ils comprennent respectivement la moitié et les trois quart des espèces des catégories "1" et "2" - et pas davantage.

- Chacune des deux catégories est largement diversifiée en terme de genres et d'espèces. Dans une classe phycologique donnée, le nombre d'espèces "1" ou "2" est proportionnel au nombre total d'espèces de la classe. ■ en est de même pour les ordres de la classe (majoritaire) des Dinophyceae.

- Cette diversité se reflète également dans les caractéristiques morphologiques, cytologiques, écologiques et physiologique des principales espèces de la catégorie "1" (on entend par "principales" les espèces qui ont donné lieu au plus grand nombre de mentions publiées et aux phénomènes les plus intenses). Ces espèces déploient, en effet, un très large spectre phycologique.

On doit enfin considérer que les phénomènes "1" et "2" semblent, depuis environ vingt ans, s'étendre sous tous les aspects: nombre d'espèces responsables, distribution géographique, dimension spatiale, fréquence, extension saisonnière, enfin (le cas échéant) nombre d'intoxications et ampleur des dégâts. La notion ici développée de diversité phycologique doit ajouter à l'inquiétude que suscitent ces phénomènes.

Gérard TREMBLIN¹, Anne PEISSIK², Max PELLEGRINI³ et Michèle SERGENT².
 (1. Laboratoire de Biologie et Physiologie Végétales, Université du Maine, Route de Laval, 72017 Le Mans Cedex. 2. Laboratoire de Méthodologie de la Recherche Expérimentale, Université d'Aix-Marseille 3 Faculté des Sciences et Techniques de St Jérôme, Avenue Escadrille Normandie Niemen, 13397 Marseille Cedex 13. 3. Laboratoire de Biologie Marine Fondamentale et Appliquée, Université d'Aix-Marseille II, Faculté des Sciences de Luminy, Case 901, 13288 Marseille Cedex 09).

Etude des variations des activités RuBPC et PEPCK chez *Cystoseira amentacea* var. *stricta* à l'aide d'une matrice d'expériences.

Les activités RuBPC (E.C. 4.1.1.39) et PEPCK (E.C.4.1.1.32) de l'algue brune *Cystoseira amentacea* Bory var. *stricta* Montagne (= *C. stricta* Sauvageau) ont été mesurées au cours de la croissance de boutures apicales de 1cm cultivées en simulateur de marées sous les conditions expérimentales suivantes: 22 l d'eau de mer natu-

relle filtrée à 0,22 μm ; pH 8; salinité: 38‰; cycle émergence-immersion: 5 min-10 min; flux lumineux 55 w m^{-2} ; photopériode: 12/12; concentration en strontium: 0,4 mM. Les variations simultanées de 4 facteurs: la concentration du milieu de culture en Ca^{++} (4 à 8 mM) et en NH_4^+ (10 à 400 μM), le temps de culture (2 à 17 jours) et la température (15 à 25°C) ont été prises en compte grâce à l'utilisation d'une matrice de Doehrlert à 21 expériences répétées 3 fois sur des lots de 40 boutures.

Les activités enzymatiques ont été déterminées en conditions contrôlées en suivant l'intensité de la fixation du $^{14}\text{CO}_2$ dans les produits stables. La quantité de radioactivité incorporée est mesurée par scintillation liquide (Compteur Betamatic 1, Kontron). Le dosage des protéines totales (méthode à l'acide bicinchoninique) de l'extrait brut permet de calculer l'activité spécifique dans chaque cas.

Les réponses expérimentales mesurées: croissance pondérale (en % du poids de matière fraîche), teneurs en protéines hydrosolubles, en chlorophylle a et c et en caroténoïdes (en mg g^{-1} de matière sèche), activités enzymatiques spécifiques (en $\text{n.moles CO}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de protéines hydrosolubles) ont été représentées par des modèles empiriques calculés par régression multilinéaire, puis analysées en faisant appel à des outils d'aide à l'interprétation comme la méthode des surfaces de réponses et l'analyse canonique. Enfin elles ont fait l'objet d'une optimisation multilinéaire qui permet de définir la meilleure région du domaine expérimental en fonction des objectifs fixés. Cette analyse a été effectuée à l'aide du logiciel NEMROD.

Les conditions de maximisation et de minimisation des activités enzymatiques sont consignées dans le tableau inséré ci-après:

Activité enzymatique	en	n.moles CO_2 $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ prot.	Ca^{++} mM	NH_4^+ μM	Temps jours	Température °C
RuBPC	max.	3,5	5,6	385	15	20
	min.	0	>6	250	6,7	18,5
PEPCK	max.	0,48	6	362	16	21,5
	min.	0	6,6	47	12,2	21,5

La recherche d'un compromis d'optimisation entre les 7 réponses expérimentales permet, en premier lieu de définir les conditions expérimentales pour lesquelles les deux activités enzymatiques sont simultanément maximales ou minimales sans modifier la composition pigmentaire de l'algue (Chl a 1,4 - Chl c 0,4-caroténoïdes 0,8 mg g^{-1} matière sèche):

optimum	RuBPC n.moles $\text{CO}_2 \text{ min}^{-1}$ $\text{mg}^{-1} \text{ prot.}$	PEPCK n.moles $\text{CO}_2 \text{ min}^{-1}$ $\text{mg}^{-1} \text{ prot.}$	Ca^{++} mM	NH_4^+ μM	Temps jours	Température °C
max.	2,1	0,4	4,6	239	14	22
min.	0,2	0,1	6,3	126	9,5	25

Cette analyse fait, de plus, apparaître l'importance des interactions entre les facteurs; celles-ci expliquent que de grandes variations des réponses expérimentales peuvent être engendrées par l'action combinée de faibles variations de certains facteurs. Par exemple, une diminution de 1,8 mM de Ca^{++} , de 11 μM de NH_4^+ et de

1,5°C entraîne une augmentation: de la croissance pondérale qui passe de 17 à 29%, de la teneur en protéines (23 à 27%) et de l'activité RuBPC (de 0,7 à 2,4 n moles CO₂ min⁻¹ mg⁻¹ de protéines).

En ayant pris soin de fixer les paramètres constants de la culture tels que la concentration en Sr⁺⁺, le flux lumineux... à des valeurs représentant le centre du domaine expérimental de chacun de ces facteurs, nous pouvons utiliser la propriété de séquentialité des matrices de Doehlert pour suivre cette étude en faisant varier un ou plusieurs facteurs supplémentaires et en intégrant les premiers résultats à ceux qui seront obtenus par les analyses complémentaires.

Descolas-Gros C. & Fontugne M.R., 1985 - Carbon fixation in marine phytoplankton: carboxylase activities and stable carbon-isotope ratios; physiological and paleoclimatological aspects. *Mar. Biol.* 87: 1-6.

Kremer B.P. & Kuppers U., 1977 - Carboxylating enzymes and pathways of photosynthetic carbon assimilation in different marine algae-evidence for the C4-pathway? *Planta* 133: 191-196.

Mathieu D. & Phan-Tan-Luu R., 1983 - *Logiciel NEMROD*. LPRAI, Marseille.

Pellegrini M. & Lahaye M., 1987 - A tide-generating apparatus for the laboratory cultures of marine algae. *Aquacultural Engineering* 6: 183-189.

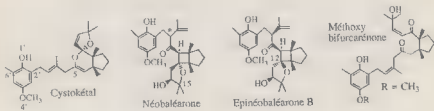
Robert VALLS¹, Véronique MESGUISCHE¹, Liliane PELLEGRINI² et Max PELLEGRINI². (1. Laboratoire d'Analyse et de Valorisation des Biomolécules, Université d'Aix-Marseille III, Traverse Charles Susini, 13388 Marseille Cedex. 2. Laboratoire de Biologie Marine Fondamentale et Appliquée, Université d'Aix-Marseille II, Faculté des Sciences de Luminy, 13288 Marseille Cedex 09).

Variations de la composition en mérodiaterpènes de *Cystoseira amentacea* var. *stricta* sur les côtes méditerranéennes.

Nous présentons les résultats relatifs à l'étude de la variation de la composition en mérodiaterpènes de *Cystoseira amentacea* (Bory) var. *stricta* (Montagne) sur les côtes méditerranéennes. Les récoltes s'échelonnent de Carro (Bouches-du-Rhône) au Trayas (Var) sur 27 stations pour les côtes françaises et ont concerné deux stations aux îles Galite en Tunisie. Après avoir traité par plusieurs techniques d'extraction les algues récoltées (lyophilisation, fixation dans l'éthanol, séchage en étuve ventilée... puis extraction par l'éther) nous avons pu différencier plusieurs types d'extraits; qui ne sont pas liés à la technique d'extraction.

Quatre molécules majoritaires sont isolées: la néobaléarone et le cystokétal identifiés par l'équipe de Amico en 1987 ainsi qu'un épimère en C12 de la néobaléarone et la 4'-méthoxy bifurcarénone. Le dosage des composés isolés permet d'évaluer la quantités de ceux-ci par gramme d'algue sèche. L'étude de l'extrait nous conduit à définir quatre zones géographiques et deux types de composition chimique (A et B) qui alternent le long de la côte.

Pour chacune des quatre zones, la composition chimique est identique pour tous les points de prélèvement. La première s'étend de Carro à Marseille [type A], la deuxième du Brusuc (Var) à Carqueiranne (Var) [type B], la troisième du Cap Cartaya (Var) à Saint-Aygulf (Var) [type A] et la quatrième de Boulouris-sur-mer (Var) au Trayas (Var) [type B].



Les quatre molécules isolées sont données ci-dessus et permettent, avec l'inventaire de toutes les molécules de cette famille isolées des *Cystoseira*, de faire quelques propositions de chimiotaxonomie. En effet, on peut penser à une molécule-type pour la famille des *Cystoseiracées* composée d'un noyau hydroquinonique substitué en 1' et 4' par -OR, en 6' par un méthyl et en 2' par une chaîne latérale diterpénique plus ou moins cyclisée. On note des sites réactifs sur des positions caractéristiques de la chaîne latérale. Bien que d'autres genres de Phéophycées puissent posséder ces méroditerpènes (*Bifurcaria*, *Cystophora*, *Sargassum*, *Stypodium* ou *Halidrys*) on n'observe pas, sur ceux-ci, les sites de réactivité des *Cystoseira*.

Cette étude présente un phénomène de variation géographique de la composition en métabolites secondaires pour une algue brune *C. amentacea* var. *stricta*. On peut donc espérer isoler encore bien des structures chimiques nouvelles dans ce genre si les autres espèces présentent le même phénomène.

Xue Wu LIU¹, Francis MAGNE² et Bernard KLOAREG¹ (1. Station biologique, Roscoff.
2. Cryptogamie, Muséum Natl. Hist. Nat. Paris).

Culture d'explants tissulaires de *Porphyra umbilicalis* (Bangiales, Rhodophytes). Effet des hormones végétales sur l'induction et le développement des cals.

Des explants de gamétophytes de *Porphyra umbilicalis* (L.) Kützting ont été cultivés en milieu liquide en présence de diverses combinaisons d'auxines (acide naphthalène acétique, acide 2,4-dichlorophénoxyacétique) et cytokinine (kinétine). La proportion d'explants tissulaires qui se développent, sous forme de masses cellulaires non organisées (cals), est fonction du rapport auxine/cytokinine. Selon les conditions de culture et l'apport dans le milieu des régulateurs de croissance, diverses formes de développement des cals ont été observées: régénération directe de frondes; émission de cellules isolées sans développement ultérieur; émission de cellules isolées qui donnent ensuite naissance à des filaments unisériés de type conchelis; ou croissance de filaments conchocéliens directement à partir de la périphérie des cals. Ces diverses voies de développement rappellent les phases naturelles du cycle de vie de *P. umbilicalis*: multiplication asexuée de la fronde; production de spermaties et de carpospores; et alternance de la génération microscopique filamenteuse (conchocelis). Toutefois, les cals et filaments conchocéliens obtenus par culture de tissus sont haploïdes ($n=4$), ce qui indique que les diverses voies de développement des explants tissulaires n'impliquent pas de changement du nombre de chromosomes. Ces résultats montrent que, chez *Porphyra umbilicalis*, l'alternance de générations morphogénétiques peut artificiellement être dissociée du cycle caryologique, une observation en accord avec le fait que plusieurs espèces de *Porphyra* possèdent dans la nature un cycle de vie

hétéromorphe entièrement haploïde. De plus ces expériences contribuent à démontrer que l'apport d'hormones végétales peut contrôler le développement chez les algues.